

File 352:DERWENT WPI 1963-1998/UD=9829;UP=9826;UM=9824  
 (c)1998 Derwent Info Ltd  
 \*File 352: All images are now present. Display formats have changed  
 for 1998. See HELP FORM 352 for more information.

Set	Items	Description
PN=(JP 56020509+JP 60224616+JP 59163313+JP 57032215)		
	1	PN=JP 56020509
	1	PN=JP 60224616
	1	PN=JP 59163313
	1	PN=JP 57032215
S1	4	PN=(JP 56020509+JP 60224616+JP 59163313+JP 57032215)
?T /5/1		

1/5/1  
 DIALOG(R)File 352:DERWENT WPI  
 (c)1998 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

004493901  
 WPI Acc No: 85-320779/198551  
 XRAM Acc No: C85-138671  
 Intra-nasal compsn. e.g. calcitonin - comprising physiologically active  
 poly peptide and hygroscopic slightly water soluble base component  
 Patent Assignee: TEIJIN LTD (TEIJ )  
 Number of Countries: 001 Number of Patents: 002  
 Patent Family:  

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Main IPC	Week
JP 60224616	A	19851109	JP 8481034	A	19840424		198551 B
JP 87042888	B	19870910					198740

Priority Applications (No Type Date): JP 8481034 A 19840424  
 Patent Details:  

Patent	Kind	Lan	Pg	Filing	Notes	Application	Patent
JP 60224616	A		13				

Abstract (Basic): JP 60224616 A

An intranasal compsn. comprising (a) a physiologically active  
 polypeptide component and (b) a hygroscopic and hardly water sol. base  
 component. Polypeptides have a molecular wt. of 1,000-300,000, e.g.  
 peptide hormones such as calcitonin, insulin, lutenizing  
 hormone-releasing hormone; physiological active proteins such as  
 interferon, interleukin, transferrin, hemagglutinin VII-factor; enzyme  
 proteins such as lysozyme, urokinase; vaccine components such as  
 pertussis vaccine, diphtheria vaccine, influenza vaccine.

USE/ADVANTAGE - Active component (a) (such as calcitonin or  
 insulin) is effectively absorbed from a nasal mucosa.

0/0

Title Terms: INTRA; NASAL; COMPOSITION; CALCITONIN; COMPRISE; PHYSIOLOGICAL  
 ; ACTIVE; POLY; PEPTIDE; HYGROSCOPIC; SLIGHT; WATER; SOLUBLE; BASE;  
 COMPONENT

Derwent Class: A96; B04

International Patent Class (Additional): A61K-009/14; A61K-035/74;  
 A61K-037/02; A61K-039/10; A61K-045/02

File Segment: CPI

?

⑫ 特 許 公 報 (B 2)

昭62-42888

⑤Int. Cl. <sup>4</sup>	識別記号	庁内整理番号	⑭公告 昭和62年(1987)9月10日
A 61 K	37/02	8615-4C	
	37/24	8615-4C	
	37/26	8615-4C	
	37/30	8615-4C	
	37/34	8615-4C	
	39/10	7252-4C	
	39/145	7252-4C	
	45/02	7252-4C	
// A 61 K	9/02		
	9/14	T-6742-4C	
	37/04	8615-4C	
	37/14	8615-4C	
	37/32	8615-4C	
	37/38	8615-4C	
	37/54	8615-4C	
	39/02	7252-4C	

発明の数 1 (全12頁)

⑭発明の名称 経鼻投与用組成物

⑮特 願 昭59-81034

⑯公 開 昭60-224616

⑰出 願 昭59(1984)4月24日

⑱昭60(1985)11月9日

⑲発 明 者	鈴 木	嘉 樹	日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人株式会社生物医学研究所内
⑲発 明 者	関 根	邦 男	日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人株式会社生物医学研究所内
⑲発 明 者	永 井	恒 司	東京都台東区東上野4-23-5
⑲発 明 者	南 部	直 樹	川崎市宮前区神木本町2丁目7 長尾住宅
⑲発 明 者	西 本	裕 二	東京都品川区平塚1-3-9
⑳出 願 人	帝 人 株 式 会 社		大阪市東区南本町1丁目11番地
㉑代 理 人	弁理士 前田 純博		
審 査 官	水 野	昭 宣	

1

2

⑳特許請求の範囲

- 1 生理活性を有するポリペプチド類と、水吸収性でかつ水難溶性の基剤からなる粉末状経鼻投与用組成物。
- 2 基剤が、水吸収性でかつ水難溶性の、セルロース類、澱粉類、タンパク類、架橋ビニル重合体類、もしくはガム類である特許請求の範囲第1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。
- 3 基剤が、水吸収性でかつ水難溶性のセルロース類である特許請求の範囲第1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。
- 4 水吸収性でかつ水難溶性のセルロース類が、結晶セルロース、 $\alpha$ -セルロース又は架橋カルボキシメチルセルロースナトリウムである特許請求

の範囲第3項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

- 5 水吸収性でかつ水難溶性のセルロース類が、結晶セルロースである特許請求の範囲第3項記載の粉末状経鼻投与用組成物。
- 6 基剤が、水吸収性でかつ水難溶性の架橋ビニル重合体類である特許請求の範囲第1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。
- 7 水吸収性でかつ水難溶性の架橋ビニル重合体類が、架橋ポリビニルピロリドン又は架橋カルボキシビニル重合体である特許請求の範囲第6項記載の粉末状経鼻投与用組成物。
- 8 水吸収性でかつ水難溶性の基剤とともに、水吸収性でかつ水易溶性の基剤を用いる特許請求の範囲第1項～第7項のいずれか1項記載の粉末状

PTO 99-1341  
S.T.I.C. Translations Branch

経鼻投与用組成物。

9 水吸収性でかつ水易溶性の基剤が、セルロース低級アルキルエーテル又はポリアクリル酸塩類である特許請求の範囲第8項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

10 水吸収性でかつ水易溶性の基剤が、ヒドロキシプロピルセルロースである特許請求の範囲第8項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

11 生理活性を有するポリペプチド類が、分子量1000~300000のポリペプチド類である特許請求の範囲第1項~第10項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

12 生理活性を有するポリペプチド類が、水可溶性ポリペプチド類である特許請求の範囲第1項~第11項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

13 生理活性を有するポリペプチド類が、粉末状ポリペプチド類である特許請求の範囲第1項~第12項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

14 生理活性を有するポリペプチド類が、水可溶性で粉末状でありかつ凍結乾燥していないポリペプチド類である特許請求の範囲第1項~第13項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

15 生理活性を有するポリペプチド類が、ペプチドホルモン、生理活性蛋白、酵素蛋白又はワクチンである特許請求の範囲第1項~第14項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

16 生理活性を有するポリペプチド類が、ペプチドホルモンである特許請求の範囲第1項~第15項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

17 ペプチドホルモンが、カルシトニン、インシュリン、黄体形成ホルモン、放出ホルモン、デスモプレシン、バソプレシン又はオキシトシンである特許請求の範囲第16項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

18 生理活性を有するポリペプチド類が、ワクチンである特許請求の範囲第1項~第17項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

19 ワクチンが、インフルエンザワクチン又は百日咳ワクチンである特許請求の範囲第18項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

20 生理活性を有するポリペプチド類が、生理活性蛋白である特許請求の範囲第1項~第19項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

21 生理活性蛋白が、インターフェロンである特許請求の範囲第20項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

22 90重量%以上の粒子が有効粒子径10~250ミクロンの間にある特許請求の範囲第1~第21項のいずれか1項記載の粉末状経鼻投与用組成物。

#### 発明の詳細な説明

#### 技術分野

本発明は粉末状の経鼻投与用ポリペプチド類組成物に関する。更に詳細には、本発明は、カルシトニン、インシュリンなどの生理活性を有するポリペプチド類と、水吸収性でかつ水難溶性の基剤とからなる粉末状組成物であつて鼻腔内に噴霧投与したとき、効率よくポリペプチド類が鼻粘膜より吸収される、経鼻投与用のポリペプチド類組成物に関する。

#### 従来技術

インシュリン、カルシトニンなどのペプチドホルモンは、分子量が大きくまたペプシン、トリプシンあるいはキモトリプシンなどの蛋白分解酵素によつて分解されやすいため経口投与では吸収されにくく有効に薬理効果を発揮できず、従つて注射剤として投与が行われているのが現状である。

しかしながら、注射剤による投与は苦痛を伴うため、他の種々の投与方法が試みられている。

例えば、サリチル酸ナトリウム、3-メトキシサリチル酸ナトリウム、5-メトキシサリチル酸などのサリチル酸誘導体を吸収促進剤として用いた坐剤による直腸内投与方法(J. Pharm. Pharmacol., 33334 (1981)がある。これ以外の方法として気管内投与(Diabetes, 20552, (1971))、点眼投与(糖尿病学会抄集、237, (1974))などの方法が検討されている。

しかしながら、いずれの方法も注射に比べて高投与量が必要なこと、また吸収が変動しやすいという難点があるため、現在においてまだ実用化に到っているものはほとんどない。

一方、鼻腔内投与に関する試みとして、吸収促進剤としてグリコール酸ナトリウムなどの界面活性剤を用いたインシュリンの酸性水溶液の経鼻投

5

与法が知られている (Diabetes, 27296, (1978)).

しかしながら、この方法においては、剤型が液状であるため経鼻投与したとき、液剤が鼻腔外へ流出しやすく、また界面活性剤を用いており、安全な投与法とは言い難いものである。

また粉末状の経鼻投与用製剤とし、U.S.P. No.4294829には、セルロース低級アルキルエーテルと薬物とからなる製剤が開示されている。この製剤は、セルロース低級アルキルエーテルが鼻粘膜上で水分を吸収し、粘稠な液体状態になつて鼻粘膜上を流動し、薬物を徐々に放出するという特徴を有している。かかる製剤は、鼻腔内で粘稠な液体状態になるため、分子量の大きい薬物の場合、薬物がセルロース低級アルキルエーテル内にとどまつて、薬物が放出されにくい傾向を示す。従つて、この製剤は、薬物としてカルシトニン、インシュリンなどの高分子量の薬物を用いる場合には、未だ改善する余地のあるものである。

#### 発明の目的

本発明の目的は、粉末状の経鼻投与用組成物を提供することにある。

本発明の目的は、生理活性を有するポリペプチド類のための、粉末状経鼻投与用組成物を提供することにある。

本発明の目的は、吸収促進剤を使用することなく、生理活性を有するポリペプチド類が、鼻粘膜より効率よく吸収される粉末状の経鼻投与用組成物を提供することにある。

本発明の目的は、特にインシュリン、カルシトニンなどのポリペプチド類が、吸収促進剤を使用することなく、鼻粘膜より効率よく吸収される粉末状の経鼻投与用組成物を提供することにある。

本発明の目的は、生理活性を有するポリペプチド類が、鼻粘膜より効率よく吸収され、かつ徐放効果も有する粉末状の経鼻投与用組成物を提供することにある。

本発明の目的は、鼻腔内に噴霧したときに、効率よく鼻腔内に投与することが可能な適度の粒径を有する粉末状の経鼻投与用組成物を提供することにある。

本発明の他の目的及び利点は以下の記述から明らかとなるであろう。

発明の構成及び作用効果

6

本発明によれば、これらの目的及び利点は、生理活性を有するポリペプチド類と、水吸収性でかつ水難溶性の基剤からなる粉末状経鼻投与用組成物によつて達成される。

5 本発明では、薬物は、生理活性を有するポリペプチド類が対象となる。ポリペプチド類は、分子量が1000~30万の範囲にあるポリペプチド類が鼻粘膜より吸収されやすいという点で好ましい。分子量は特に、1000~15万の範囲が好ましい。生理活性を有するポリペプチド類の好ましい具体例としては次のものが挙げられる。例えばインシュリン、アンジオテンシン、バソプレシン、デスモプレシン、フェリプレシン、プロチレリン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、コルチコトロピン、プロラクチン、ソマトロピン、サイロトロピン、黄体形成ホルモン、カルシトニン、カリクレイン、パラサイリン、グルカゴン、オキシトシン、ガストリン、セクレチン、血清性性腺刺激ホルモン、成長ホルモン、エリスロポエチン、アンジオテンシン、ウロガストロン、レニンなどのペプチドホルモン；インターフェロン、インターロイキン、トランスフェリン、ヒスタグロブリン、マクロコルチン、血液凝固第Ⅷ因子などの生理活性タンパク；リゾチーム、ウロキナーゼなどの酵素タンパク；百日ゼキワクチン、ジフテリアワクチン、破傷風ワクチン、インフルエンザワクチンあるいはリンパ球増多因子、繊維状赤血球凝集因子などのワクチンコンポーネントが挙げられる。これらのなかでも特にペプチドホルモンが好ましく、ペプチドホルモンのなかでも特に、カルシトニン、インシュリン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、デスモプレシン、バソプレシン又はオキシトシンが好ましい。更にはカルシトニン、インシュリンが好ましい。

35 また本発明の経鼻投与用組成物にあつては、生理活性ポリペプチド類は粉末状の形体にあるものが好ましく使用される。また生理活性ポリペプチド類は鼻粘膜からの吸収を考慮すれば、水可溶性であることが好ましい。ここで水可溶性とは、ポリペプチド類が、ヒトの鼻粘膜上においてもしくはこれに近い環境下で、すなわちpH約7.4で温度約36℃~37℃の水溶液に可溶であるという意味である。

従つて、水可溶性でないものもしくは水可溶性

の性質を示し難いポリペプチド類は、例えばpH値を調整して一旦水に溶解せしめしかる後に凍結乾燥して、水可溶性でかつ粉末状の形態にしてから使用するのが好ましい。

また粉末状の形態にないポリペプチド類は、一旦凍結乾燥してから使用するのが好ましい。

もちろん、粉末状の形態にありかつ水可溶性のポリペプチド類は凍結乾燥をしないで使用することができる。この場合、凍結乾燥を必要としないので簡便な方法で製剤化ができるという利点を有する。

上記ポリペプチド類は、安定化を図るため、あるいは安定化と共に増量剤として、人血清アルブミン、マンニトール、ソルビトール、アミノ酢酸、アミノ酸、塩化ナトリウム、リン脂質などを併用してもよい。

本発明の経鼻投与用組成物は、基剤として、水吸収性でかつ水難溶性の性質を有する基剤を使用する。ここで水吸収性でかつ水難溶性とは、ヒトの鼻粘膜上においてもしくはこれに近い環境下で、すなわちpH約7.4で温度約36°C～約37°Cの水に対して、水吸収性でかつ水難溶性の性質を有するという意味である。

水吸収性でかつ水難溶性の基剤を用いることによつて、本発明の組成物は、鼻腔内に投与された時、先ず鼻粘膜上の水分を吸収して、粒子が粘稠な液体状態になつて流動することなく、適度に分散し、粒子は鼻粘膜の付着局所に滞留して、高分子量のポリペプチド類は鼻粘膜と良好に接触し、これがためにポリペプチド類の高い吸収性を示すと考えられる。本発明においては、経鼻投与用ポリペプチド製剤の基剤としてかかる基剤を選択することによつて、吸収促進剤を使用することなく、十分に薬理効果を発揮し得る程度に、ポリペプチド類が吸収される。

本発明の水吸収性でかつ水難溶性の基剤は、セルロース低級アルキルエーテル、すなわち、鼻粘膜上で粘稠な液体状態になるヒドロキシプロピルセルロースの如きセルロース低級アルキルエーテルとは区別されるものである。本発明の水吸収性でかつ水難溶性の基剤の好ましい具体例としては以下のものが挙げられる。

例えば、結晶セルロース、 $\alpha$ -セルロース、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウムなどの

水吸収性でかつ水難溶性のセルロース類；ヒドロキシプロピン澱粉、カルボキシメチル澱粉、架橋澱粉、アミロース、アミロペクチン、ペクチンなどの水吸収性でかつ水難溶性の澱粉類；ゼラチン、カゼイン、カゼインナトリウムなどの水吸収性でかつ水難溶性のタンパク類；アラビアガム、トラガントガム、グルコマンナンなどの水吸収性でかつ水難溶性のガム類；ポリビニルポリピロリドン、架橋ポリアクリル酸およびその塩、架橋ポリビニルアルコール、ポリヒドロキシエチルメタアクリレートなどの架橋ビニル重合体類などが挙げられる。これらのなかでも水吸収性でかつ水難溶性のセルロース類が好ましく、特に結晶セルロースが好ましい。

水吸収性でかつ水難溶性の基剤の使用量は、用いるポリペプチド類の種類などによつて異なり、一概には言えないが、通常ポリペプチド類に対して1重量倍以上の範囲、特に15重量倍以上、更には20重量倍以上の範囲が好ましい。

本発明の組成物にあつては、水吸収性でかつ水難溶性の基剤とともに、水吸収性でかつ水易溶性の基剤を併用してもよい。水吸収性でかつ水易溶性の基剤を併用することによつて、水吸収性でかつ水難溶性の基剤に若干の溶解性が付与されて次の如き効果が生ずる。すなわち鼻腔内に投与したとき、水吸収性でかつ水難溶性の基剤とポリペプチド類からなる粒子が分散し、同時に水吸収性でかつ水易溶性の基剤が溶解して粘稠な液体状態となり、本発明の基剤に若干の粘稠性と流動性が付与されて、ポリペプチド類が徐々に吸収されるようになり、いわゆる徐放効果が生ずることになる。

水吸収性でかつ水易溶性の基剤は、単に水吸収性でかつ水難溶性の基剤に混合して用いてもよく、あるいはポリペプチド類を凍結乾燥する際に、添加してともに凍結乾燥してもよい。ポリペプチド類とともに凍結乾燥する場合にはポリペプチド類が水吸収性でかつ水易溶性の基剤の粒子中に分散せしめられた形態となり最終的に得られる組成物はより優れた徐放性を有するものとなる。

ここで使用される水吸収性でかつ水易溶性の基剤としては、例えばポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸カリウム、ポリアクリル酸アンモニウムなどのポリアクリル酸塩類；メチルセルロ

ース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどのセルロース低級アルキルエーテル類；ポリエチレングリコールポリビニルピロリドン、アミロース、プルランなどが挙げられる。なかでもポリアクリル酸ナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドンが特に好ましい。特にヒドロキシプロピルセルロースが好ましい。水吸収性でかつ水易溶性の基剤の使用量は、水吸収性でかつ水難溶性の基剤に対して0.1～60重量%が好ましく、特に1～50重量%が好ましい。

本発明の粉末状組成物は、その90重量%以上の粒子が有効粒子径10～250ミクロンの間にあるのが好ましい。かかる範囲の粒子径の粒子とすることによつて、鼻腔内に投与したとき鼻粘膜上に広く分布し、付着局所によく滞留するようになるとともに、更に粉剤として鼻孔を通して鼻腔内に噴霧されたとき、効率よく鼻腔内に投与することができる。

有効粒子径10ミクロンより小さな粒子が10重量%より多い量を占めるものでは、噴霧などの方法によつて投与した時に、肺まで到達したり、あるいは噴霧した際鼻孔外へ散逸するものが多くなる。また付着局所に於ける薬物濃度が高く維持されにくい。一方有効粒子径250ミクロンを超える粒子が10重量%より多い量を占めるものでは、鼻腔内へ投与したとき、鼻粘膜上に付着しても粘膜から離れ易く、薬物の局所滞留性が低くなるため好ましくない。特にその90重量%以上の粒子の有効粒子径が20～150ミクロンの間にあるものが好ましい。

本発明の組成物は、水吸収性でかつ水難溶性の基剤とポリペプチド類が独立の粒子を形成していてもよく、水吸収性でかつ水難溶性の基剤の表面上にポリペプチド類が付着していてもよく、また水吸収性でかつ水難溶性の基剤の粒子内にポリペプチド類が区別された相を形成して分散していてもよく、あるいは水吸収性でかつ水難溶性の基剤の粒子内にポリペプチド類が良好な分散状態で緊密に分散していてもよい。

水吸収性でかつ水難溶性の基剤とポリペプチド

類が独立した粒子を形成しているか又は水吸収性でかつ水難溶性の基剤の表面上にポリペプチド類が付着している本発明の組成物は水吸収性でかつ水難溶性の基剤にポリペプチド類を加え、機械的に混合し次いで篩過して、好ましくは90重量%以上の粒子が有効粒子径10～250ミクロンからなる組成物を得ることにより製造することができる。

水吸収性でかつ水易溶性の基剤を併用する場合には、機械的に混合する際に、水吸収性でかつ水難溶性の基剤と同時に混合すれば良い。

水吸収性でかつ水難溶性の基剤の粒子内にポリペプチド類が区別された相を形成して分散しているかあるいは水吸収性でかつ水難溶性の基剤の粒子内にポリペプチド類が良好な分散状態で緊密に分散している本発明の組成物は次のようにして得られる。ポリペプチド類を、水吸収性でかつ水難溶性の基剤と機械的に混合し、次いで得られた混合物を加圧して圧縮し、得られた圧縮物を粉碎し、篩過して、好ましくは90重量%以上の粒子が有効粒子径10～250ミクロンからなる組成物を得ることによつて製造される。あるいは水吸収性でかつ水難溶性の基剤とポリペプチド類を水に加えてよく練合し通常の方法によつて乾燥して、又は凍結乾燥して、次いで篩過して得ることもできる。

水吸収性でかつ水易溶性の基剤を併用する場合には、ポリペプチド類と水吸収性でかつ水難溶性の基剤とを機械的に混合する際に、水吸収性でかつ水易溶性の基剤を添加し、次いで上記の如く、混合物を圧縮する工程に付せばよい。あるいは水吸収性でかつ水難溶性の基剤とポリペプチド類とを水に加えて練合する際に、水吸収性で水易溶性の基剤を添加することもできる。

他方、前記した如く、ポリペプチド類を凍結乾燥する際に、水吸収性でかつ水易溶性の基剤を加えて同時に凍結乾燥することによつて、水吸収性でかつ水易溶性の基剤を併用する方法も採ることができる。

本発明の粉末状組成物は、製剤としての物性、外観あるいは臭を改良する等のため、必要に応じ、公知の着色剤、保存剤、防腐剤、矯臭剤等を添加しても良い。着色剤としては例えば銅クロロフィル、 $\beta$ -カロチン、赤色2号、青色1号等；保存剤としては例えば、ステアリン酸、アスコル

11

ビン酸ステアレート、アスコルビン酸等；防腐剤としては例えばパラオキシ安息香酸エステル、フェノール、クロロブタノール等；矯臭剤として例えばメントール、カンキツ香料等が挙げられる。

本発明の組成物は、そのまま単位投与形態の粉 5 剤とすることができる。

かかる粉剤は、投与のための好ましい形態として、カプセル例えばハードゼラチンカプセルに充填することができる。

粉剤を鼻腔内に噴霧投与する方法としては、例 10 えば、粉剤を充填したカプセルを、針を備えた専用のスプレー器具にセットして針を貫通させ、それによりカプセルの上下に微小な孔をあけ、次いで空気をゴム球等で送りこんで粉剤を噴出させる方法などがある。

以下、実施例により本発明を詳述するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

#### 実施例 1

(i) 本発明の粉末状の経鼻投与用組成物を次のようにして得た。

(a) インシュリンに0.1NHCℓ水溶液を加え、次いで精製水を加えて溶解してから凍結乾燥することによつて得られる水可溶性インシュリン粉末(25.5単位/mg)400mgと3600mgの結晶セルロースとを混合器に取りよく混合す 25 ることによつて、90重量%以上の粒子が75~149ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は2.55単位/mgのインシュリン活性を有する。

(b) インシュリン10mg(25.5単位/mg)を0.1N塩酸0.2mlに溶解してから水200mlを加えたインシュリン水溶液にカルボポール934を40mg加えて溶解する。この溶液に0.01N水酸化ナトリウム水溶液約30mlを加えてpH7.4に調節 35 してから凍結乾燥することにより、5.1単位/mgのインシュリン活性を有するインシュリンとカルボポール934との中性で均一な粉末状組成物(I)を得た。

次いで粉末状組成物(I)50mgと結晶セル 40 ロース50mgとを乳鉢中に取りよく混和することによつて90重量%以上の粒子が75~149ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物(II)を得た。このようにして得られた粉末

12

状組成物(II)は2.55単位/mgのインシュリン活性を有する。

(c) (a),(b)に示したインシュリンを含有する粉末状組成物をそれぞれカプセルに充填することにより、ヒト経鼻投与用インシュリン製剤を得た。

(iii) 本発明の組成物と比較するため、以下に示す比較組成物を得た。

(d) インシュリンを一度溶解してから凍結乾燥することによつて得られる水可溶性インシュリン粉末(25.5単位/mg)700mgと6300mgの乳糖とを混合器に取りよく混合することによつて、90重量%以上の粒子が75~149ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は2.55単位/mgのインシュリン活性を有する。

(e) インシュリンを一度溶解してから凍結乾燥することによつて得られる水可溶性インシュリン粉末(25.5単位/mg)400mgと3600mgのヒドロキシプロピルセルロースとを混合器に取りよく混合することによつて、90重量%以上の粒子が75~149ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は2.55単位/mgのインシュリン活性を有する。

#### 実施例 2

(犬における粉末状インシュリン製剤の経鼻投与実験)

ネブタール注射液(ペントバルビタールナトリウム50mg/ml含有)を25mg/kg静脈注射することによつて麻酔した雄性のビーグル犬(体重9.4~12.6kg)の鼻腔内に、実施例1の(a),(b),(d),(e)で作成した粉末状インシュリン製剤をそれぞれ3単位/kg投与した。粉末状インシュリン製剤の投与はポリエチレンチューブ(直径約2mm)を外鼻孔へ約3cm挿入し二連球で噴霧することにより実施し、投与後経時的に前腕静脈より採血した。血漿中のグリコース濃度はオルトトルイジンを用いた方法により測定した(クリニカル・ケミストリー(Clinical Chemistry)8215(1962))。第1図に血漿中グルコースの変化を血糖効果率(%)で示した。なお第1図に示した値はビーグル犬4頭の平均値である。なお比較のためインシュリン原末そのものを水に懸濁してマイクロピペットで



5 単位/10 $\mu$ ℓ/kg 経鼻投与した時の血漿中グルコース濃度の変化の結果も第 1 図に破線で示した。

第 1 図において(1)は基剤として結晶性セルロース(実施例の(a))、(2)はインシュリンとポリアク  
5 リル酸ナトリウムとの凍結乾燥品と、結晶性セルロースを用いた場合(実施例 1 の(b))を示し、(3)は基剤として乳糖(実施例 1 の(d))、(4)はヒドロキシプロピルセルロース(実施例 1 の(e))を用いた場合を示している。

第 1 図より明らかな如く、結晶性セルロースを用いた組成物はインシュリンの吸収が優れ、また結晶性セルロースとともにポリアクリル酸ナトリウムを用いた組成物は、インシュリンの吸収が優れ、かつ徐放効果も示す。

#### 実施例 3

(i) ブタインシュリン 100mg を 0.1N 塩酸 1 ml に溶かしてから水 40ml を加えたインシュリン溶液を作成し、これを凍結乾燥することにより水可溶性のインシュリン粉末(26.3 単位/mg)を得た。このインシュリン粉末を用いて以下に示す本発明の組成物を得た。

(a) 水可溶性インシュリン粉末(26.3 単位/mg) 20mg と結晶セルロース 140mg とを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は約 3.3 単位/mg のインシュリン活性を有する。

(ii) 上記インシュリン粉末を用いて、本発明の組成物と比較するため以下の比較組成物を得た。

(b) 水可溶性インシュリン粉末(26.3 単位/mg) 15mg と乳糖 105mg とを乳鉢中に取りよく混和することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は約 3.3 単位/mg のインシュリン活性を有する。

(c) 水可溶性インシュリン粉末(26.3 単位/mg) 20mg とヒドロキシプロピルセルロース 140mg とを乳鉢中に取りよく混和することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は約 3.3 単位/mg のインシュリン活性を有する。

#### 実施例 4

(実兎における粉末状インシュリン製剤の経鼻

#### 投与実験)

白色在来種雄性家兎(体重 3.0~3.5kg)の鼻腔内に実施例 3 の(a)~(c)で作成した粉末状インシュリン製剤をそれぞれ 10 単位/head 投与し、投与後 10 分、20 分、30 分、60 分及び投与前に家兎の耳静脈より採血した。なお粉剤の投与は動物用に改良した噴霧器を使用して、エーテルで軽く麻酔した状態ないし、正常の状態で行なつた。血清中のインシュリン濃度はラジオイムノアッセイにより測定した。結果は第 2 図に示したが、第 2 図に示した値は家兎 3 羽の平均値である。なお比較のためインシュリン原末そのものを水に懸濁してマイクロピペットで 10 単位/50 $\mu$ ℓ/head 経鼻投与した時の結果も第 2 図に破線で示した。

15 第 2 図において(1)は基剤として結晶性セルロース(実施例 2 の(a))、(2)は乳糖(実施例 3 の(b))、(3)はヒドロキシプロピルセルロース(実施例 3 の(c))を用いた場合を示す。

第 1 図から明らかな如く、本発明の組成物は、インシュリンの吸収性が高い。

#### 実施例 5

結晶セルロース 2000mg と凍結乾燥した〔ASU1.7〕ーウナギカルシトニン(4000MRC 単位/mg) 0.5mg とを混合器に取り緊密によく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は約 1MRC 単位/mg の〔ASU1.7〕ーウナギカルシトニンを含有する。カプセル充填器により当該組成物を所定のカプセルに 10~50mg 充填することによつてヒト経鼻投与用製剤を得た。

なお以下(a)、(b)は動物実験用のカルシトニン粉末状組成物の作成例を示した。

(a) 結晶セルロース 200mg を乳鉢中に取り、これに凍結乾燥した〔ASU1.7〕ーウナギカルシトニン(4000MRC 単位/mg) 0.3mg を加えてよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は 5.99MRC 単位/mg の〔ASU1.7〕ーウナギカルシトニンを含有する。

(b) 結晶セルロース 100mg を乳鉢中に取り、これに凍結乾燥したサケカルシトニン(2000MRC 単位/mg) 0.3mg を加えてよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は



5.98MRC単位/mgサケカルシトニンを含む。  
する。

#### 実施例 6

(実兎における粉末状カルシトニン製剤の経鼻投与実験)

白色在来種雄性家兎(体重2.5~3.0kg)の鼻腔内に実施例5の(a), (b)で作成した粉末状カルシトニン製剤を6MRC単位/kg投与し、投与前及び投与後1時間、2時間、4時間、6時間目に家兎の耳静脈より採血した。粉剤の投与は実施例2と同様にして行なつた。投与前及び投与後の血清中カ\*

\*ルシウム濃度を測定しカルシトニンの鼻粘膜からの吸収性を調べた。血清中カルシウムの測定は、ヤترون社製カルシウム測定キットを用いて行つた。結果をカルシトニン粉剤投与前の血清カルシウム値に対するカルシウム値の低下度(%)で第1表に示した。表に示した値は3羽の家兎の平均値である。

なお対照としてほぼ中性の〔ASU1.7〕ーウナギカルシトニン水溶液6MRC単位/15μℓ/kgを経鼻投与した結果も第1表に示した。

第1表 血清カルシウム値の低下度

	粉 剤		血清カルシウム値の投与前に対する低下度(%)			
	基 剤	カルシトニン投与量	1時間	2時間	4時間	6時間
本発明の製剤	結晶セルロース	[ASU1.7] ウナギカルシトニン 6MRC単位/kg	10.3	9.1	2.2	0.3
	結晶セルロース	サケカルシトニン 6MRC単位/kg	9.6	7.5	0.7	0.3
対照	水	[ASU1.7] ウナギカルシトニン 6MRC単位/kg	2.7	1.7	0.0	0.7

#### 実施例 7

結晶セルロース490mgを乳鉢中に取り、これに凍結乾燥したバソプレシン(70~100単位/mg)10mgを加えよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は1.4~2.0単位/mgバソプレシンを含有する。

得られた粉末状組成物を所定のカプセルに充填することによつてヒト経鼻投与用の製剤を得た。

#### 実施例 8

結晶セルロース990mgを乳鉢中に取り、これに凍結乾燥した黄体形成ホルモン放出ホルモン10mgを加えよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は10μℓ/mgの黄体形成ホルモン放出ホルモンを含有し、これを所定のカプセルに充填することによつてヒト経鼻投与用の製剤を得た。

#### 実施例 9

結晶セルロース950mgを乳鉢中に取り、これに人血清アルブミンを加えて凍結乾燥したインター

25 フェロン(10万単位/mg)50mgを加えよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は5000単位/mgのインターフェロンを含有し、これを所定のカプセルに充填することによつてヒト経鼻投与用の製剤を得た。

#### 実施例 10

結晶セルロース2000mgを乳鉢中に取り、これに凍結乾燥した酢酸デスマプレシン/mgを加えよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られる粉末状組成物は0.5μg/mgの酢酸デスマプレシンを含有し、これを所定のカプセルに充填することによつてヒト経鼻投与用の製剤を得た。

#### 実施例 11

(i) ブタインシュリン粉末(26.3単位/mg)10mgと結晶セルロース90mgとを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末性組成物は2.63単位/mgのインシュリン活性を有する。

(iii) 本発明の組成物と比較するため以下の比較組成物を得た。

(a) ブタインシュリン粉末 (26.3単位/mg) 20mgと乳糖180mgとを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末性組成物は2.63単位/mgのインシュリン活性を有する。

(b) ブタインシュリン粉末 (26.3単位/mg) 20mgとハイドロキシプロピルセルロース180mgとを乳鉢中に取りよく混和することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末性組成物は2.63単位/mgのインシュリン活性を有する。

#### 実施例 12

(実兎における粉末状インシュリン製剤の経鼻投与実験)

白色在来種雄性家兎 (体重3.1~3.7kg) の鼻腔\*

第2表 血清中グルコースの変化

	粉 剤		血糖降下率(%)			
	基 剤	インシュリン 投与量	30分	1時間	2時間	4時間
本発明の製剤	結晶セルロース	単位/kg	45	52	30	9
比較用に作成した製剤	乳糖	単位/kg	14	24	9	-1
	ハイドロキシプロピルセルロース	単位/kg	13	35	80	8
対照	水	5単位/kg	3	5	-0.5	1

#### 実施例 13

(i) 結晶セルロース99.9mgとサケカルシトニン (約3000MRC単位/mg) 0.1mgとを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末性組成物は約3MRC単位/mgのサケカルシトニンを含有する。

(ii) ハイドロキシプロピルセルロース19.9mgとサケカルシトニン (約3000MRC単位/mg) 0.1mgとを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物 (I) を得た。当該粉末状組成物 (II) は約15MRC単位/mgのサケカルシトニンを含有する。

次いで粉末状組成物 (I) 10mgと結晶セルロース40mgとを乳鉢中に取りよく混合することに

\*内に実施例11の(i)及び(ii)の(a), (b)で作成した粉末状インシュリン製剤をそれぞれ5単位/kg投与し、投与後30分、1時間、2時間、4時間及び投与前に家兎の耳静脈より採血した。採血後の血液を遠心分離器による2800r.p.m., 10分間の遠心分離により血清とした。なお粉剤の投与は、動物用に改良した噴霧器を使用して、エーテルで軽く麻酔した状態ないし、正常の状態で行なつた。血清中のグルコース濃度はオルトトルイジンを用いた方法により測定した (クリニカル・ケミストリー、8, 215 (1962))。血清中グルコースの変化を第2表に血糖降下率 (%) で示した。表に示した値は5羽の家兎の平均値である。なお対照としてインシュリン原末そのものを水に懸濁してマイクロピペットで5単位/15 $\mu$ l/kg経鼻投与した時の結果も第2表に示した。

よつて均一な粉末状組成物 (II) を得た。このようにして得られた粉末状組成物 (II) は約3MRC単位/mgサケカルシトニンを含有する。

#### 実施例 14

(家兎における粉末状カルシトニン製剤の経鼻投与実験)

白色在来種雄性家兎 (体重2.5~3.0kg) の鼻腔内に実施例13の(i)及び(ii)で作成した粉末状カルシトニン製剤を5MRC単位/kg投与し、投与前及び投与後1時間、2時間、4時間、6時間目に家兎の耳静脈より採血した。粉剤の投与は実施例12と同様に行なつた。投与前及び投与後の血清中カルシウム濃度を測定しカルシトニンの鼻粘膜からの吸収性を調べた。血清中カルシウムの測定は、ヤトロン社製カルシウム測定キットを用いて

行なつた。血清中カルシウムの変化を第3表にカルシウム降下率(%)で示した。表に示した値は4羽の家兎の平均値である。

\* なお対照としてはほぼ中性のサケカルシトニン水溶液約5MRC単位/15 $\mu$ ℓ/kgを経鼻投与した時の結果も第3表に示した。

第3表 血清カルシウム変化

	粉 剤		血清カルシウム降下率(%)			
	基 剤	カルシトニン投与量	1時間	2時間	4時間	6時間
本発明の製剤	結晶セルロース	サケカルシトニン 5MRC単位/kg	12.2	7.8	2.5	0.7
	ハイドロキシプロピルセルロース/ 結晶セルロース (1/4)	サケカルシトニン 5MRC単位/kg	9.1	6.5	4.3	0.3
対照	水	サケカルシトニン 5MRC単位/kg	3.1	0.5	0.0	0.6

#### 実施例 15

結晶セルロース2000mgと〔ASU1.7〕ウナギカルシトニン(4000MRC単位/mg)0.5mg又はサケカルシトニン(2000MRC単位/mg)1.0mgとを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は約1MRC単位/mgの〔ASU1.7〕ウナギカルシトニン又はサケカルシトニンを含有する。

カプセル充填器により当該組成物を所定のカプセルに10~50mg充填することによつてヒト経鼻投与用製剤を得た。

#### 実施例 16

ヒドロキシプロピルセルロース199mgとサケカルシトニン(2000MRC単位/mg)1mgとを50mlの水に溶解する。この溶液を凍結乾燥することにより10MRC単位/mgの活性を有するサケカルシトニンとハイドロキシプロピルセルロースとの均一な粉末状組成物(I)を得た。次いで粉末状組成物(I)100mgと結晶セルロース900mgとを乳鉢中に取りよく混和することによつて90%以上の粒子が10~250ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物(II)を得た。このようにして得られた粉末状組成物(II)は1MRC単位/mgのサケカルシトニンを含有する。

カプセル充填器により当該組成物(II)を所定のカプセルに10~50mg充填することによつてヒト経鼻投与用製剤を得た。

#### 実施例 17

ハイドロキシプロピルセルロース499mgと〔ASU1.7〕ウナギカルシトニン(4000MRC単位/mg)1mgとを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物(I)を得た。当該粉末状組成物(I)は8MRC単位/mgの〔ASU1.7〕ウナギカルシトニンを含有する。

次いで粉末状組成物(I)200mgと結晶セルロース800mgとを乳鉢中に取りよく混合することによつて90%以上の粒子が10~250ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物(II)を得た。このように得られた粉末状組成物(II)は、1.6MRC単位/mgの〔ASU1.7〕ウナギカルシトニンを含有する。

カプセル充填器により当該組成物(II)を所定のカプセルに10~50mg充填することによつてヒト経鼻投与用製剤を得た。

#### 実施例 18

百日咳菌コンポーネントである赤血球凝集素1mg及び無毒化した百日咳毒素1mgと結晶セルロース1gとを乳鉢中に取りよく混合することによつて均一な粉末状組成物を得た。このようにして得られた粉末状組成物は約2 $\mu$ g/mgの百日咳菌のコンポーネントを含有する。

カプセル充填器により当該組成物を所定のカプセルに10~25mg充填することによつてヒト経鼻投与用製剤を得た。

#### 実施例 19

インフルエンザHAワクチンを凍結乾燥して得られた粉末200mgとヒドロキシプロピルセルロース800mgとを乳鉢中に取りよく混合することによって均一な粉末状組成物(I)を得た。当該粉末状組成物(I)は約200 $\mu$ g/mgのインフルエンザHAワクチンの凍結乾燥品粉末を含有する。

次いで粉末状組成物(I)50mgと結晶セルロース950mgとを乳鉢中に取りよく混合することによって90%以上の粒子が10~150ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物(II)を得た。このようにして得られた粉末状組成物(II)は10 $\mu$ g/mgのインフルエンザHAワクチンの凍結乾燥品粉末を含有する。

カプセル充填器により当該組成物(II)を所定のカプセルに10~30mg充填することによってヒト経鼻投与用製剤を得た。

#### 実施例 20

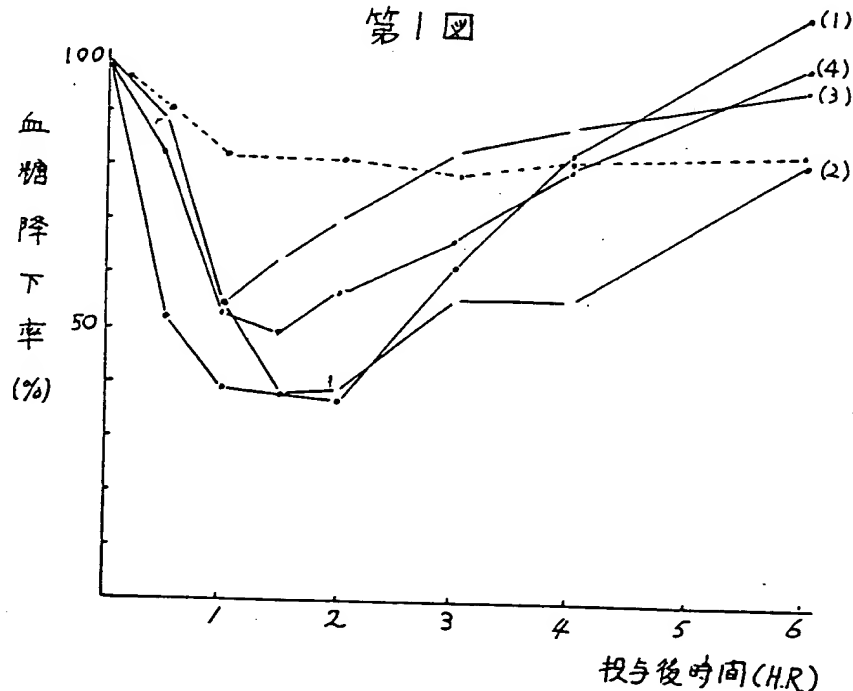
サケカルシトニン(約3000MRC単位/mg)0.2mgを0.2mlの精製水に溶解し次いで400mgの結晶セルロースを加えてよく練合することによってサケカルシトニンを溶解してなる溶液が結晶セルロースに均一に吸着した状態にある組成物(I)を得た。このようにして得られた組成物(I)を凍結乾燥し、次いで篩過することによって、90重量%以上の粒子が25~149ミクロンの粒子径を有する均一な粉末状組成物(II)を得た。

このようにして得られた粉末状組成物(II)は1.50MRC単位/mgのサケカルシトニンを含有する。

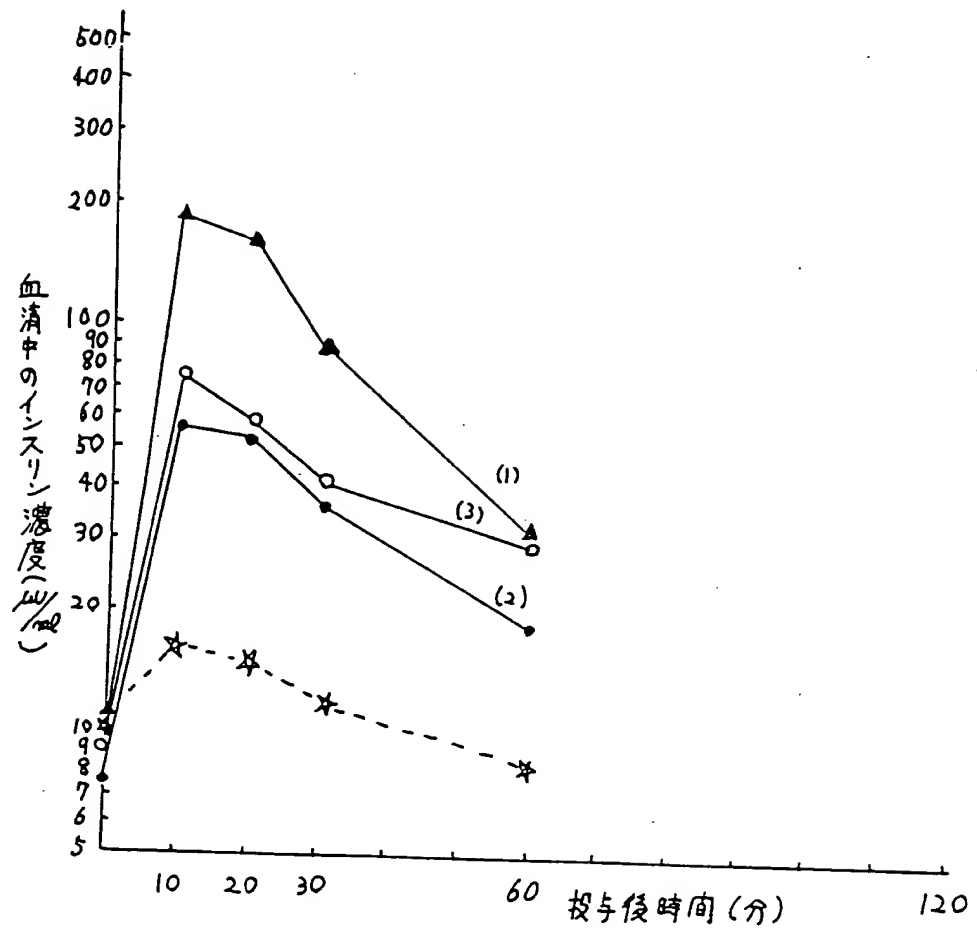
カプセル充填器により当該組成物(II)を所定のカプセルに10~50mg充填することによってヒト経鼻投与用製剤を得た。

#### 図面の簡単な説明

第1図は、ポリペプチド類としてインシュリンを用いた本発明の組成物を経鼻投与したときの、インシュリンの吸収を血糖降下率で示したものである。第2図は、インシュリンを用いた本発明の組成物を経鼻投与したときのインシュリンの吸収を血清中のインシュリン濃度で示したものである。第1図において(1)は基剤として結晶性セルロース(実施例1の(a))、(2)はインシュリンとポリアクリル酸ナトリウムとの凍結乾燥品と、結晶性セルロースを用いた場合(実施例1の(b))を示し、(3)は基剤として乳糖(実施例1の(d))、(4)はヒドロキシプロピルセルロース(実施例1の(e))を用いた場合を示している。破線はコントロールを示す。第2図において(1)は基剤として結晶性セルロース(実施例2の(a))、(2)は乳糖(実施例3の(b))、(3)はヒドロキシプロピルセルロース(実施例3の(c))を用いた場合を示す。破線はコントロールを示す。



## 第 2 図



PTO 99P-1341

Japanese Kokai Patent Application  
No. Sho 62[1987]-42888

NASAL ADMINISTRATION COMPOSITION  
[Keibitoyoyo Soseibutsu]

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE  
WASHINGTON, D.C.      JANUARY 1999  
TRANSLATED BY THE RALPH MCELROY TRANSLATION COMPANY

Code: PTO 99-1341

## JAPANESE PATENT OFFICE

## PATENT JOURNAL

KOKAI PATENT APPLICATION NO. SHO 62[1987]-42888

Int. Cl.<sup>4</sup>:

A 61 K 37/02  
37/24  
37/26  
37/30  
37/34  
39/10  
39/145  
45/02  
//A 61 K 9/02  
9/14  
37/04  
37/14  
37/32  
37/38  
37/54  
39/02

Sequence No. for Office Use:

8615-4C  
8615-4C  
8615-4C  
8615-4C  
8615-4C  
7252-4C  
7252-4C  
7252-4C  
T-6742-4C  
8615-4C  
8615-4C  
8615-4C  
8615-4C



8615-4C

7252-4C

Application No.: Sho 59[1984]-81034  
Application Date: April 24, 1984  
Publication Date: September 10, 1987  
Kokai No.: Sho 60[1985]-224616  
Kokai Date: November 9, 1985  
No. of Inventions: 1 (Total of 12 pages)

NASAL ADMINISTRATION COMPOSITION  
[Keibitoyoyo Soseibutsu]

Inventor: Masaki Suzuki et al.  
Applicants: Teijin K.K.

[There are no amendments to this patent. ]

Claims

46A 1. Nasal administration powdered composition, characterized by comprising a polypeptide having physiological activity and a water-absorbing and slightly water-soluble base material. /1\*

2. The nasal administration powdered composition of Claim 1, wherein the base material is a water-absorbing and slightly

---

\* [Numbers in the margin indicate pagination in the foreign text.]

water-soluble cellulose, starch, protein, crosslinked vinyl polymer, or gum.

3. The nasal administration powdered composition of Claim 1, wherein the base material is a water-absorbing and slightly water-soluble cellulose.

4. The nasal administration powdered composition of Claim 3, wherein the water-absorbing and slightly water-soluble cellulose is crystalline cellulose,  $\alpha$ -cellulose, or crosslinked sodium carboxymethylcellulose. (c) 64,88

5. The nasal administration powdered composition of Claim 3, wherein the water-absorbing and slightly water-soluble cellulose is crystalline cellulose. 64,88

6. The nasal administration powdered composition of Claim 1, wherein the base material is a water-absorbing and slightly water-soluble crosslinked vinyl polymer.

7. The nasal administration powdered composition of Claim 6, wherein the water-absorbing and slightly water-soluble crosslinked vinyl polymer is crosslinked polyvinylpyrrolidone or a crosslinked carboxyvinyl polymer.

8. The nasal administration powdered composition of Claims 1-7, wherein the water-absorbing and slightly water-soluble base material is used with a water-absorbing and very water-soluble base material. /2

9. The nasal administration powdered composition of Claim 8, wherein the water-absorbing and very water-soluble base material is a cellulose lower alkyl ether or polyacrylate.

10. The nasal administration powdered composition of Claim 8, wherein the water-absorbing and very water-soluble base material is hydroxypropylcellulose. 46B  
65,89

11. The nasal administration powdered composition of Claims 1-10, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a polypeptide having a molecular weight of 1,000-300,000. 57, 60A, 62A

12. The nasal administration powdered composition of Claims 1-11, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a water-soluble polypeptide. 81, 84A, 86A

13. The nasal administration powdered composition of Claims 1-12, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a polypeptide powder.

14. The nasal administration powdered composition of Claims 1-13, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a polypeptide, that is water-soluble, a powder, and not freeze-dried.

15. The nasal administration powdered composition of Claims 1-14, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a peptide hormone, physiologically active protein, enzyme protein, or vaccine.

16. The nasal administration powdered composition of Claims 1-15, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a peptide hormone.

17. The nasal administration powdered composition of Claim 16, wherein the peptide hormone is calcitonin, insulin, luteinizing hormone-releasing factor desmopressin, vasopressin, or oxytocin.

18. The nasal administration powdered composition of Claims 1-17, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a vaccine.

19. The nasal administration powdered composition of Claim 18, wherein the vaccine is influenza vaccine or pertussis vaccine.

59, 61  
63, 83  
85, 87

20. The nasal administration powdered composition of Claims 1-19, wherein the physiological-activity-possessing polypeptide is a physiologically active protein.

21. The nasal administration powdered composition of Claim 20, wherein the physiologically active protein is interferon.

22. The nasal administration powdered composition of Claims 1-21, wherein 90 wt% or more of powder the particles have an effective particle size of 10-250 microns. 51-53,71-77,95-98

#### Detailed explanation of the invention

##### Industrial application field

This invention pertains to a nasal administration powdered polypeptide composition. In particular, it pertains to a nasal administration polypeptide composition that is a powdered composition comprising a physiological-activity-possessing polypeptide such as calcitonin, insulin, etc., and a water-absorbing and slightly water-soluble base material that effectively is absorbed from the nasal mucous membrane when it is administered by spraying inside the nasal cavity.

##### Prior art

Peptide hormones such as insulin, calcitonin, etc., have large molecular weights and are liable to be decomposed by protease enzymes such as pepsin, trypsin, and chymotrypsin. Consequently, they are difficult to be absorbed by oral administration and to exhibit their pharmacological effects

effectively. Therefore, they have been administered by injection to date.

However, there is the problem of pain in the case of injection, so other means of administration have been attempted.

For example, there is a rectal administration procedure [J. Pharm. Pharmacol., 33334 (1981)] that uses suppositories containing salicylic acid derivatives such as sodium salicylate, sodium 3-methoxysalicylate, 5-methoxysalicylic acid, etc., as an absorption promoter. In addition, there are also intratracheal administration (Diabetes, 20552 (1971)), instillation administration (Abstracts, Annual Meeting of Japanese Diabetes Research Association, 237 (1974)), etc.

However, all of these methods have difficulties such as the requirement of a dose higher than that of injection and absorption that is liable to fluctuate; consequently, they are not greatly used in practice to date.

On the other hand, as an attempt for intranasal administration, there is an example of the nasal administration of an acidic aqueous solution of insulin prepared using a surfactant such as sodium glycolate as an absorption promoter (Diabetes, 27296 (1978)).

/3

In this method, the formulation used is a liquid; consequently, the liquid formulation is liable to flow from the nasal cavity. Furthermore, the use of a surfactant implies that the administration method is not necessarily safe.

Furthermore, as a nasal administration powdered formulation, U.S. Patent No. 4,294,829 discloses a formulation comprising a cellulose lower alkyl ether and a drug. This formulation is characterized by the cellulose lower alkyl ether that absorbs moisture on the nasal mucous membrane becoming a viscous liquid that flows along the nasal mucous membrane, gradually releasing the drug contained in the formulation. In such a formulation, a drug having a large molecular weight is trapped in the cellulose lower alkyl ether, becoming a viscous liquid inside the nasal cavity, and it is liable to become difficult to release the drug. Therefore, this formulation needs further improvement in the case of using high-molecular-weight drugs such as insulin, calcitonin, etc.

#### Objective of the invention

The objective of the invention is to provide a nasal administration powdered composition.

Another objective of this invention is to provide a nasal administration powdered composition for polypeptides having physiological activity.

Another objective of this invention is to provide a nasal administration powdered composition enabling polypeptides having physiological activity to be efficiently absorbed through the nasal mucous membrane without using any absorption promoter.

Another objective of this invention is to provide a nasal administration powdered composition enabling polypeptides such as insulin, calcitonin, etc., to be efficiently absorbed through the nasal mucous membrane without using any absorption promoter.

Another objective of this invention is to provide a nasal administration powdered composition enabling polypeptides having physiological activity to be efficiently absorbed through the nasal mucous membrane without using any absorption promoter and having slow-release effects.

Another objective of this invention is to provide a nasal administration powdered composition having a particle size suitable for efficient administration inside the nasal cavity when it is sprayed.

Other objectives and advantages of this invention will become apparent from the following description.

#### Configuration of the invention and action

According to this invention, these objectives and advantages can be accomplished by a nasal administration powdered composition comprising a polypeptide having physiological activity and a water-absorbing and slightly water-soluble base material.

The drugs usable in this invention are polypeptides having physiological activity. Those polypeptides having a molecular weight of 1,000 to 300,000 are preferable because they are easily



absorbed through the nasal mucous membrane. The molecular weight is preferably 1,000 to 150,000. Preferable specific examples of such polypeptides having physiological activity are peptide hormones such as insulin, angiotensin, vasopressin, desmopressin, ferripressin, protirelin, luteinizing hormone-releasing factor, corticotropin, prolactin, somatropin, thyrotropin, luteinizing hormone, calcitonin, kallikrein, parathyrin, glucagon, oxytocin, gastrin, secretin, serum gonadotropin, growth hormone, erythropoietin, angiotensin [sic], urogastrone, renin, etc.; physiologically active proteins such as interferon, interleukin, transferrin, histaglobulin, macrocortin, hemagglutinin factor VII, etc.; enzyme proteins such as lysozyme, urokinase, etc.; vaccines and components such as pertussis vaccine, diphtheria vaccine, influenza vaccine, lymphocytosis promoting factor, fibrous erythroagglutinin factor, etc. Among these, the use of peptide hormones is especially preferable; among these peptide hormones, the use of calcitonin, insulin, luteinizing hormone-releasing factor, desmopressin, vasopressin, or oxytocin is preferable. Furthermore, the use of calcitonin or insulin is optimal.

Furthermore, in the nasal administration composition of this invention, the physiologically active polypeptide is preferably in its powder form. In addition, considering absorption through the nasal mucous membrane, the physiologically active polypeptide is preferably water-soluble. Water-soluble means that it is soluble in an aqueous solution on the nasal mucous membrane or an environment that is similar to it, that is, at a pH of about 7.4 and temperature of about 36-37°C.

If a polypeptide showing no water-solubility or only slight water-solubility, it is dissolved in water by, for example, adjusting the pH and is subsequently freeze-dried to obtain a water-soluble powder.

/4

If a polypeptide to be used is not in its powder form, it is preferably freeze-dried before using.

It is possible to use a polypeptide without any freeze-drying if it is in its powder form and is water-soluble. Because of no freeze-drying, it is possible to formulate this using a simple method advantageously in this case.

To stabilize the polypeptide used, it is possible to use human serum albumin, mannitol, sorbitol, aminoacetic acid, amino acids, sodium chloride, phospholipids, etc., simultaneously as a stabilizer, as well as a bulking agent.

In the nasal administration composition of this invention, a water-absorbing and slightly water-soluble base material is used. In this case, the water-absorbing and slightly water-soluble properties act on the nasal mucous membrane or an environment similar to it, that is, at a pH of about 7.4 and a temperature of about 36-37°C.

Because of the use of a water-absorbing and slightly water-soluble base material, the composition of this invention absorbs water on the nasal mucous membrane first when it is applied inside the nasal cavity; as a result, the particles of the composition are converted to a viscous fluid that is suitably

distributed without flowing and remain on sites on the nasal mucous membrane where the particles were first applied, allowing its content, that is, the high-molecular-weight polypeptide, to come into close contact with the nasal mucous membrane and enabling the polypeptide to show a high degree of absorption. In this invention, such a base material is selected for the nasal administration composition; as a result, the polypeptide is sufficiently absorbed to the extent of exhibiting its pharmacological effect satisfactorily without using any absorption promoter.

The water-absorbing and slightly water-soluble base material of this invention has to be distinguished from a cellulose lower alkyl ether, that is, a cellulose lower alkyl ether such as hydroxypropylcellulose, etc., which becomes a viscous liquid on the nasal mucous membrane. Specific examples of the water-absorbing and slightly water-soluble base material of this invention are as follows.

There are, for example, water-absorbing and slightly water-soluble types of cellulose such as crystalline cellulose,  $\alpha$ -cellulose, crosslinked sodium carboxymethylcellulose, etc.; water-absorbing and slightly water-soluble starches such as hydroxypropyl starch, carboxymethyl starch, crosslinked starch, amylose, amylopectin, pectin, etc.; water-absorbing and slightly water-soluble proteins such as gelatin, casein, sodium casein, etc.; water-absorbing and slightly water-soluble gums such as gum arabic, tragacanth gum, glucomannan, etc.; and crosslinked vinyl polymers such as crosslinked polyacrylic acid and its salts, crosslinked poly(vinyl alcohol), poly(hydroxyethyl methacrylate),

etc. Among these examples, the use of water-absorbing and slightly water-soluble cellulose materials is preferable, and the use of crystalline cellulose is optimal.

The amount of such a water-absorbing and slightly water-soluble base material to be used differs depending on the kind of polypeptide used, etc., and it cannot be defined universally; however, in general, the amount by weight is the same as that of the polypeptide used or higher, particularly 15 times or higher, and preferably 20 times or higher.

In the composition of this invention, the water-absorbing and slightly water-soluble base material may be used together with a water-absorbing and very water-soluble base material. As a result of using a water-absorbing and very water-soluble base material concomitantly, the following effects are generated because of the improved solubility of the combined base material with the water-absorbing and slightly water-soluble base material. Specifically, when the composition is applied inside the nasal cavity, those particles comprising the water-absorbing and slightly water-soluble base material are dispersed; at the same time, the water-absorbing and very water-soluble base material is dissolved forming a viscous liquid, providing these particles with slight fluidity and viscosity, enabling the polypeptide to be absorbed gradually and thus promoting a so-called slow-release effect.

The water-absorbing and very water-soluble base material may be used by simply mixing with the water-absorbing and slightly water-soluble base material or, when the polypeptide is

freeze-dried, it may be added before carrying out freeze-drying. In the case of freeze-drying with the polypeptide, the polypeptide is prepared in the state of being dispersed in particles of the water-absorbing and very water-soluble base material; the final composition prepared shows an excellent slow-releasing property.

As a water-absorbing and very water-soluble base material usable in this case, there are, for example, polyacrylates such as sodium polyacrylate, potassium polyacrylate, ammonium polyacrylate, etc.; cellulose lower alkyl ethers such as hydroxyethylcellulose, hydroxypropylcellulose, sodium carboxymethylcellulose, etc; polyethylene glycol polyvinylpyrrolidone; amylose; Pullulan, etc. Among these, sodium polyacrylate, methylcellulose, hydroxypropylcellulose, sodium carboxymethylcellulose, polyethylene glycol, and polyvinylpyrrolidone are preferable, and the use of hydroxypropylcellulose is optimal. The amount of such a water-absorbing and very water-soluble base material is of 0.1-60 wt%, especially 1-50 wt%, based on the amount of the water-absorbing and slightly water-soluble base material. /5

In the powdered composition of this invention, the effective particle size of 90 wt% or more of its particles is preferably 10-250 microns. As a result of such a particle size distribution, the composition is widely spread on the mucous membrane when it is administered inside the nasal cavity enabling particles to remain on the initially applied sites; at the same time, when the composition is administered inside the nasal cavity by spraying

through a nostril as a powder, the administration into the nasal cavity can be carried out efficiently.

If there are more than 10 wt% of particles having an effective particle size below 10 microns, the administration method such as spraying causes the composition to reach the lungs or a large portion to escape outside the nostril where the composition is sprayed. At the same time, the drug concentration cannot be maintained high at those sites where the particles have adhered. On the other hand, if there are more than 10 wt% of particles having an effective particle size over 250 microns, the particles are easily released from the nasal mucous membrane after the composition is administered into the nasal cavity, shortening the site-residing time of the drug, so it is not desirable. Optimally, 90 wt% or more of particles have an effective particle size of 20-150 microns.

In the composition of this invention, the water-absorbing and slightly water-soluble base material and peptide may form separate independent particles, and the polypeptide may be adhered on the surface of the water-absorbing and slightly water-soluble base. Furthermore, the polypeptide may be dispersed as a distinguishable phase within the particles of the water-absorbing and slightly water-soluble base material, or alternatively the polypeptide may be densely dispersed in a good dispersed state inside the particles of the water-absorbing and slightly water-soluble base material.

The composition of this invention with a water-absorbing and slightly water-soluble base material and polypeptide forming

independent particles or polypeptide adhered on the surface of particles of a water-absorbing and slightly water-soluble base material can be prepared by adding a polypeptide to a water-absorbing and slightly water-soluble base material, mixing them mechanically, carrying out sieving of the mixture and obtaining a composition wherein 90 wt% or more of its particles have an effective particle size of 10-250 microns.

If a water-absorbing and very water-soluble base material is to be concomitantly used, the above mechanical mixing of the water-absorbing and slightly water-soluble base material and polypeptide is carried out with the water-absorbing and very water-soluble base material.

If the polypeptide is dispersed inside particles of a water-absorbing and slightly water-soluble base material as a distinguishable phase or densely in a good dispersed state, the composition of this invention is prepared as follows. A water-absorbing and slightly water-soluble base material is mechanically mixed with a polypeptide; subsequently, the mixture is compressed by pressing, then the compressed product obtained is pulverized and sieved to obtain a composition wherein 90 wt% or more of its particles have an effective particle size of 10-250 microns. Alternatively, a water-absorbing and slightly water-soluble base material and polypeptide are kneaded well by adding water, the kneaded mixture is dried by a conventional method, or it is freeze-dried, and the dried mixture is sieved.

If a water-absorbing and very water-soluble base material is to be used concomitantly, the above mechanical mixing of the



water-absorbing and slightly water-soluble base material and polypeptide is carried out with a water-absorbing and very water-soluble base material added, then the mixture is subjected to the compression step as described above. Alternatively, a water-absorbing and very water-soluble base material may be added during the step for kneading the water-absorbing and slightly water-soluble base material and polypeptide with water added.

On the other hand, it is also possible, as described above, to add a water-absorbing and very water-soluble base material to a polypeptide before carrying out freeze-drying; after freeze-drying, the water-absorbing and very water-soluble base material and polypeptide are mixed with a water-absorbing and slightly water-soluble base material to obtain the composition of this invention.

The powdered composition of this invention may also contain, if necessary a known coloring agent, preservative, antiseptic, flavor, etc., for the purpose of improving the physical properties, appearance, smell, etc., as a formulation. As a coloring agent, there are, for example, copper chlorophyll,  $\beta$ -carotene, Red No. 2, Blue No. 1, etc.; as a preservative, there are, for example, stearic acid, ascorbic stearate, ascorbic acid, etc.; as an antiseptic, there are, for example, para-oxybenzoate, phenol, chlorobutanol, etc.; and as a flavor, there are, for example, menthol, citrus flavor, etc. /6

The composition of this invention may be made into a powdered formulation in the unit administration form as it is.

Such a powdered formulation may be placed in a capsule or hard gelatin capsule as a preferable form for administration.

As a method for spraying this powdered formulation inside the nasal cavity, for example, a capsule filled with the powdered formulation is set on a proprietary spraying tool equipped with a needle that is subsequently allowed to penetrate through the capsule to form small holes at the top and bottom of the capsule; subsequently, the powdered formulation inside the capsule is allowed to jet out using a rubber bulb, etc., and blowing air into the capsule.

This invention is explained specifically in detail using application examples as follows, but it is not necessarily limited to these examples.

#### Application Example 1

(i) The nasal administration powdered composition of this invention was prepared as follows.

(a) To insulin, a 0.1 N aqueous solution of HCl was added; subsequently, pure water was added for dissolution, the solution was freeze-dried to obtain a water-soluble insulin powder (25.5 units/mg), and 400 mg of the powder and 3600 mg of crystalline cellulose were subsequently mixed thoroughly in a mixer to obtain a uniform powdered composition comprising particles, 90 wt% or more of which had a particle size of 75-149 microns. The powdered composition prepared as described above has an insulin activity of 2.55 units/mg.

(b) To an insulin aqueous solution prepared by dissolving 10 mg (25.5 units/mg) of insulin in 0.2 mL of 0.1N hydrochloric acid and adding 200 mL of water, 40 mg of Carbopol 934 were added and dissolved. To this solution prepared, about 30 mL of a 0.01N aqueous solution of sodium hydroxide were added; after adjusting to pH 7.4, the solution was freeze-dried to obtain a neutral and homogeneous powdered composition (I) of insulin and Carbopol 934 having an insulin activity of 5.1 units/mg.

Subsequently, 50 mg of the powdered composition (I) and 50 mg of crystalline cellulose were mixed well in a mortar to obtain a uniform powdered composition (II), 90 wt% or more of the particles of which had a particle size of 75-149 microns. The powdered composition (II) prepared as described was found to have an insulin activity of 2.55 units/mg.

(c) The insulin-containing powdered compositions shown in (a) and (b) were placed in capsules to obtain human nasal administration formulations.

(ii) The following compositions were prepared to compare with the composition of this invention.

(d) In a mixer, 700 mg of a water-soluble insulin powder (25.5 units/mg), prepared by dissolving insulin and carrying out freeze-drying of the solution, and 6300 mg of lactose were mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition, 90 wt% or more of the particles of which had a particle size of 75-149 microns. The insulin activity of the powdered composition prepared was found to be 2.55 units/mg.

(e) In a mixer, 400 mg of a water-soluble insulin powder (25.5 units/mg), prepared by dissolving insulin and carrying out freeze-drying of the solution, and 3600 mg of hydroxypropylcellulose were mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition, 90 wt% or more of the particles of which had a particle size of 75-149 microns. The insulin activity of the powdered composition prepared was found to be 2.55 units/mg.

#### Application Example 2

(Nasal administration experiments for insulin powdered formulations by using dogs)

In the nasal cavity of male beagles (body weight of 9.4-12.6 kg) anesthetized by the intravenous injection 25 mg/Kg of Nembutal injection solution (containing 50 mg/mL of sodium pentobarbital), the insulin powdered formulations prepared in Application Example 1 (a), (b), (d), and (e) were respectively administered in the amount of 3 units/kg. The insulin powdered formulation administration was carried out by inserting a polyethylene tube (about 2 mm diameter) into a nostril at a depth of about 3 cm, spraying by feeding air from a double bulb, and the blood was sampled over time from the front leg vein. The glucose concentration in the plasma was measured by a method using ortho-toluidine (Clinical Chemistry, 8215 (1962)). Figure 1 shows the results of changes in the plasma glucose concentration using the blood-sugar-level effective (sic; hypoglycemia) rate (%). Incidentally, the results shown in Figure 1 are mean values for 4 beagles. For comparison, insulin stock powder was suspended in water; a micropipette was used to carry out the

nasal administration of 5 units/10  $\mu$ L/kg, and the plasma glucose /7 concentration changes were examined. The results obtained are shown in Figure 1 with the broken line.

In Figure 1, (1) shows the results with crystalline cellulose used as a base material ((a) in Application Example [1]), (2) shows the results obtained with the freeze-dried product of insulin and sodium polyacrylate with crystalline cellulose ((b) in Application Example 1), (3) shows the results obtained with lactose as a base material ((d) in Application Example 1), and (4) shows the results obtained with hydroxypropylcellulose ((e) in Application Example 1).

As is apparent from the results shown in Figure 1, the absorption of insulin was excellent in the composition prepared using crystalline cellulose; furthermore, the composition prepared using crystalline cellulose as well as sodium polyacrylate showed both an excellent insulin absorption and slow-releasing effects.

### Application Example 3

(i) A water-soluble insulin powder (26.3 units/mg) was prepared by dissolving 100 mg of insulin in 1 mL of 0.1N hydrochloric acid and adding 40 mL of water to obtain an insulin solution, which was subsequently freeze-dried. The insulin powder prepared was used to obtain the following samples of the composition of this invention.

(a) In a mortar, 20 mg of the water-soluble insulin powder (26.3 units/mg) and 140 mg of crystalline cellulose were thoroughly mixed to obtain a uniform powdered composition. The insulin activity of the powdered composition prepared as described above was found to be about 3.3 units/mg.

(ii) The following compositions used to compare with the composition of this invention were prepared using the insulin powder prepared as described above.

(b) In a mortar, 15 mg of the water-soluble insulin powder (26.3 units/mg) and 105 mg of lactose were thoroughly mixed to obtain a uniform powdered composition. The insulin activity of the powdered composition prepared as described above was found to be about 3.3 units/mg.

(c) In a mortar, 20 mg of the water-soluble insulin powder (26.3 units/mg) and 140 mg of hydroxypropylcellulose were thoroughly mixed to obtain a uniform powdered composition. The insulin activity of the powdered composition prepared as described above was found to be about 3.3 units/mg.

#### Application Example 4

(Nasal administration experiment for insulin powdered formulations using domestic rabbits)

In the nasal cavity of male white indigenous domestic rabbits (body weight of 3.0-3.5 kg), the insulin powdered formulations prepared in Application Example 3 (a)-(c) were administered in the amount of 10 units/head; the blood samples

were collected from the ear vein of the rabbits 10 min, 20 min, 30 min, and 60 min after drug administration and before drug administration. Incidentally, the powdered formulation administration was carried out in a slightly anesthetized state or normal state y using a nasal sprayer modified for animal application. The insulin concentration in the serum was determined by carrying out a radioimmunoassay. The results obtained are shown in Figure 2. The results shown in Figure 2 are mean values for 3 heads of domestic rabbits. Incidentally, for comparison, insulin stock powder was suspended in water, and the nasal administration of 10 units/50  $\mu$ L/head was carried out using a micropipette. The results obtained are also shown in Figure 2 by the broken line.

In Figure 2, (1) shows the results obtained using crystalline cellulose as a base material ((a) in Application Example 2), (2) shows the results obtained using lactose as a base material ((b) in application Example 3), and (3) shows the results obtained using hydroxypropylcellulose as a base material ((c) in Application Example 3).

As is apparent from the results shown in Figure 1 [sic], the composition of this invention showed a high degree of insulin absorption.

#### Application Example 5

A homogeneous powdered composition was prepared by thoroughly mixing 2000 mg of crystalline cellulose and 0.5 mg of freeze-dried (ASU1.7)-eel calcitonin (4,000 MRC units/mg) in a



mixer. The powdered composition prepared as described above was found to contain about 1 MRC unit/mg of (ASU1.7)-eel calcitonin. A human nasal administration formulation was prepared by filling capsules with 10-50 mg each of the composition using a capsule filler.

Incidentally, the following (a) and (b) show examples of the calcitonin composition of this invention for animal experiments.

(a) To 200 mg of crystalline cellulose in a mortar, 0.3 mg of freeze-dried (ASU1.7)-eel calcitonin (4,000 MRC units/mg) was added and mixed thoroughly to obtain a uniform powder mixture. The powdered composition prepared was found to contain 5.99 MRC units/mg of (ASU1.7)-eel calcitonin.

(b) To 100 mg of crystalline cellulose in a mortar, 0.3 mg of freeze-dried salmon calcitonin (2,000 MRC units/mg) was added and mixed thoroughly to obtain a uniform powder mixture. The powdered composition prepared was found to contain 5.98 MRC units/mg of salmon calcitonin.

/8

#### Application Example 6

(Nasal administration experiment for calcitonin powdered formulations using domestic rabbits)

In the nasal cavity of male white indigenous domestic rabbits (body weight of 2.5-3.0 kg), the calcitonin powdered formulations prepared in Application Example 5 (a) and (b) were administered in the amount of 6 MRC units/kg; blood samples were collected from the ear vein of the rabbits 1 h, 2 h, 4 h, and 6 h after drug administration and before drug administration. The

powdered formulation administration was carried out by the same method as that used in Application Example 2. The calcium concentrations in the serum were measured before and after drug administration to evaluate the absorbability of calcitonin from the nasal mucous membrane. The serum calcium concentrations were measured using a Yatron [transliteration] calcium measurement kit. The results shown as the rate of reduction (%) in the serum calcium concentration from that before calcitonin powdered formulation administration are listed in Table I. The results shown in the table are mean values for 3 heads of domestic rabbits.

Incidentally, as a reference, an almost neutral (ASU1.7)-eel calcitonin aqueous solution was also administered nasally in the amount of 6 MRC units/15  $\mu$ L/kg. The results obtained are also shown in Table I.

Table I: Rate of serum calcium concentration reduction

	① 粉 剤		② 血清カルシウム値の投与前に対する低下度(%)			
	③ 基 剤	④ カルシトニン投与量	⑤ 1時間	⑥ 2時間	⑦ 4時間	⑧ 6時間
本発明の 製剤 ⑨	結晶セルロース ⑩	[ASU1.7] ⑪ ウナギカルシトニン 6MRC単位/kg	10.3	9.1	2.2	0.3
	結晶セルロース ⑩	サケカルシトニン 6MRC単位/kg ⑫	9.6	7.5	0.7	0.3
対照 ⑬	水 ⑭	[ASU1.7] ウナギカルシトニン 6MRC単位/kg ⑮	2.7	1.7	0.0	0.7

Key:	1	Powdered formulation
	2	Rate (%) of reduction of serum calcium concentration from that before drug administration
	3	Base material
	4	Amount of calcitonin administered
	5	1 h
	6	2 h
	7	4 h
	8	6 h
	9	Formulation of this invention
	10	Crystalline cellulose (ASU1.7)
	11	-eel calcitonin, 6 MRC units/kg
	12	Salmon calcitonin, 6 MRC units/kg
	13	Reference
	14	Water

#### Application Example 7

To 400 mg of crystalline cellulose in a mortar, 10 mg of freeze-dried vasopressin (70-100 units/mg) were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to contain 1.4-2.0 units/mg of vasopressin.

Suitable capsules were filled with the powdered composition prepared to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 8

To 990 mg of crystalline cellulose in a mortar, 10 mg of freeze-dried luteinizing hormone-releasing factor were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to contain 10  $\mu$ L/mg of luteinizing hormone-releasing factor. Suitable capsules were

filled with the powdered composition prepared to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 9

To 950 mg of crystalline cellulose in a mortar, 50 mg of freeze-dried interferon (100,000 units/mg) prepared with human serum albumin were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to contain 5,000 units/mg of interferon. Suitable capsules were filled with the powdered composition prepared to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 10

To 2,000 mg of crystalline cellulose in a mortar, [no number provided] mg of freeze-dried desmopressin acetate were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to contain 0.5 µg/mg of desmopressin acetate. Suitable capsules were filled with the powdered composition prepared to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 11

(i) To 90 mg of crystalline cellulose in a mortar, 10 mg of porcine insulin powder (26.3 units/mg) were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to have 2.63 units/mg of porcine insulin activity.

(ii) The following compositions for comparison with the /9  
composition of this invention were prepared.

(a) To 180 mg of lactose in a mortar, 20 mg of porcine insulin powder (26.3 units/mg) were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to have 2.63 units/mg of porcine insulin activity.

(b) To 180 mg of hydroxypropylcellulose in a mortar, 20 mg of porcine insulin powder (26.3 units/mg) were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to have 2.63 units/mg of porcine insulin activity.

#### Application Example 12

(Nasal administration experiment for insulin powdered formulations using domestic rabbits)

In the nasal cavity of male white indigenous domestic rabbits (body weight of 3.1-3.7 kg), the insulin powdered formulations prepared in Application Example 11 (i) and (ii) (a) and (b) were administered in the amount of 5 units/Kg; blood samples were collected from the ear vein of the rabbits 30 min, 1 h, 2 h, and 4 h after drug administration and before drug administration. The blood samples collected were centrifuged at 2,800 rpm for 10 min to obtain serum samples. Incidentally, the powdered formulation administration was carried out in a slightly anesthetized state or normal state using a nasal sprayer

modified for animal application. The glucose concentration in the plasma was measured by a method using ortho-toluidine (Clinical Chemistry, 8, 215 (1962)). Table II shows the results as the hypoglycemia level (%) based on serum glucose level changes. Incidentally, the results shown are the mean values of 5 domestic rabbits. For comparison, insulin stock powder was suspended in water; a micropipette was used to carry out the nasal administration of 5 units/15  $\mu$ L/kg, and the plasma. The results obtained are also shown in Table II.

Table II: Serum glucose level changes

	粉 剤		② 血糖降下率(%)			
	③ 基 剤	④ インスリン 投与量	30分 ⑤	1時間 ⑥	2時間 ⑦	4時間 ⑧
⑨ 本発明の製剤	結晶セルローズ⑩	⑪ 単位/kg	45	52	30	9
⑫ 比較用に作成 した製剤	乳糖⑬	⑪ 単位/kg	14	24	9	-1
	ハイドロキシプロ ピルセルローズ⑭	⑪ 単位/kg	13	35	80	8
⑮ 対照	水⑯	⑪ 5単位/kg	3	5	-0.5	1

Key: 1 Powdered formulation  
 2 Hypoglycemia level (%)  
 3 Base material  
 4 Insulin dose  
 5 30 min  
 6 1 h

7	2 h
8	4 h
9	Formulation of this invention
10	Crystalline cellulose
11	Units/kg
12	Comparative formulation
13	Lactose
14	Hydroxypropylcellulose
15	Reference
16	Water

### Application Example 13

(i) To 99.9 mg of crystalline cellulose in a mortar, 0.1 mg of salmon calcitonin (about 3,000 MRC units/mg) was added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to contain about 3 MRC units/mg of salmon calcitonin.

(ii) To 19.9 mg of hydroxypropylcellulose in a mortar, 0.1 mg of salmon calcitonin (about 3,000 MRC units/mg) was added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition (I). The powdered composition (II) [sic] prepared was found to contain about 15 MRC units/mg of salmon calcitonin.

Subsequently, 10 mg of the powdered composition (I) and 40 mg of crystalline cellulose were mixed thoroughly in a mortar to obtain a uniform powdered composition (II). The powdered composition (II) prepared was found to contain about 3 MRC units/mg of salmon calcitonin.

Application Example 14

(Nasal administration experiment for calcitonin powdered formulations using domestic rabbits)

In the nasal cavity of male white indigenous domestic rabbits (body weight of 2.5-3.0 kg), the calcitonin powdered formulations prepared in Application Example 13 (i) and (ii) were administered in the amount of 5 MRC units/kg; blood samples were collected from the ear vein of the rabbits 1 h, 2 h, 4 h and 6 h after drug administration and before drug administration. The powdered formulation administration was carried out by the same method as that used in Application Example 12. The calcium concentrations in the serum were measured before and after drug administration to evaluate the absorbability of calcitonin from the nasal mucous membrane. The serum calcium concentrations were measured using a Yatron calcium measurement kit. The results shown as the rate of reduction (%) in the serum calcium concentration from that before the calcitonin powdered formulation administration are listed in Table III. The results shown in the table are mean values for 4 heads of domestic rabbits.

Incidentally, as a reference, a neutral salmon calcitonin aqueous solution was also administered nasally in the amount of about 5 MRC units/15  $\mu$ L/kg. The results obtained are also shown in Table III.



Table III: Rate of serum calcium concentration reduction

	① 粉 剤		② 血清カルシウム降下率(%)			
	③ 基 剤	カルシトニン投与量 ④	1時間 ⑤	2時間 ⑥	4時間 ⑦	6時間 ⑧
本発明の 製剤 ⑨	結晶セルロース ⑩	サケカルシトニン 5MRC単位/kg ⑪	12.2	7.8	2.5	0.7
	ハイドロキシプロ ピルセルロース/ 結晶セルロース (1/4) ⑫	サケカルシトニン 5MRC単位/kg ⑪	9.1	6.5	4.3	0.3
対照 ⑬	水 ⑭	サケカルシトニン 5MRC単位/kg ⑪	3.1	0.5	0.0	0.6

- Key: 1 Powdered formulation  
 2 Rate (%) of reduction of serum calcium concentration  
 3 Base material  
 4 Amount of calcitonin administered  
 5 1 h  
 6 2 h  
 7 4 h  
 8 6 h  
 9 Formulation of this invention  
 10 Crystalline cellulose  
 11 Salmon calcitonin, 5 MRC units/Kg  
 12 Hydroxypropylcellulose/crystalline cellulose  
 13 Reference  
 14 Water

#### Application Example 15

To 2,000 mg of crystalline cellulose in a mortar, 0.5 mg of (ASU1.7)-eel calcitonin (4,000 MRC units/mg) or 1.0 mg of salmon calcitonin (2,000 MRC units/mg) was added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared was found to contain about 1 MRC unit/mg of (ASU1.7)-eel calcitonin or salmon calcitonin.

Suitable capsules were filled with 10-50 mg of the composition using a capsule filler to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 16

In 50 mL of water, 199 mg of hydroxypropylcellulose and 1 mg of salmon calcitonin (2,000 MRC units/mg) were dissolved. The solution prepared was freeze-dried to obtain a uniform powdered composition (I) of salmon calcitonin and hydroxypropylcellulose having an activity of 10 MRC units/mg. To 900 mg of crystalline cellulose in a mortar, 100 mg of powdered composition (I) were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition (II), 90% or more of the particles of which were found to have a particle size of 10-250 microns. The powdered composition (II) prepared was found to contain about 1 MRC unit/mg of salmon calcitonin.

Suitable capsules were filled with 10-50 mg of composition (II) using a capsule filler to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 17

To 499 mg of hydroxypropylcellulose in a mortar, 1 mg of (ASU1.7)-eel calcitonin (4,000 MRC units/mg) was added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition (I). The powdered composition (I) prepared was found to contain about 8 MRC units/mg of (ASU1.7)-eel calcitonin or salmon calcitonin.

Subsequently, 200 mg of powdered composition (I) and 800 mg of crystalline cellulose were mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition (II), 10% or more of the particles of which were found to have a particle size of 10-25 microns. The powdered composition (II) prepared was found to contain about 1.6 MRC units/mg of (ASU1.7)-eel calcitonin or salmon calcitonin.

Suitable capsules were filled with 10-50 mg of composition (II) using a capsule filler to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 18

To 1 g of crystalline cellulose, 1 mg of hemagglutinin, which is a *Bordetella pertussis* component, and 1 mg of detoxified pertussis toxin were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition. The powdered composition prepared

was found to contain about 2 µg/mg of *Bordetella pertussis* component.

Suitable capsules were filled with 10-25 mg of the composition using a capsule filler to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 19

To 800 mg of hydroxypropylcellulose in a mortar, 200 mg of /11 powder prepared by freeze-drying influenza HA vaccine were added and mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition (I). The powdered composition (I) prepared was found to contain 200 µg/mg of influenza HA vaccine freeze-dried powder.

Subsequently, 50 mg of powdered composition (I) and 950 mg of crystalline cellulose were mixed thoroughly to obtain a uniform powdered composition (II), 90% or more of the particles of which had a particle size of 10-150 microns. The powdered composition (II) prepared was found to contain 10 µg/mg of influenza HA vaccine freeze-dried powder.

Suitable capsules were filled with 10-30 mg of composition (II) using a capsule filler to obtain a human nasal administration formulation.

#### Application Example 20

In 0.2 mL of purified water, 0.2 mg of salmon calcitonin (about 3,000 MRC units/mg) was dissolved; 400 mg of crystalline

cellulose were added and kneaded thoroughly to obtain a uniform composition (I) wherein a salmon-calcitonin-dissolved solution was uniformly adsorbed by crystalline cellulose. The composition (I) prepared as described above was freeze-dried and sieved to obtain a uniform powdered composition (II), 90 wt% [sic;%] or more of the particles of which had a particle size of 25-149 microns.

The powdered composition (II) prepared was found to contain about 1.50 MRC units/mg of salmon calcitonin.

Suitable capsules were filled with 10-50 mg of composition (II) using a capsule filler to obtain a human nasal administration formulation.

#### Brief description of the figures

Figure 1 shows the results of insulin absorption in relation to the hypoglycemia level in the case of nasal administration of the composition of this invention prepared using insulin as a polypeptide. Figure 2 shows the results of insulin absorption in relation to the serum insulin concentration in the case of nasal administration of the composition of this invention prepared using insulin. In Figure 1, (1) shows the results obtained using crystalline cellulose as a base material ((a) in Application Example 1), (2) shows the results obtained using a freeze-dried product of insulin and sodium polyacrylate and crystalline cellulose ((b) in Application Example 1), (3) shows the results obtained using lactose as a base material ((d) in Application Example 1), (4) shows the results obtained using

hydroxypropylcellulose ((e) in Application Example 1), and the broken line shows the results of the control. In Figure 2, (1) shows the results obtained using crystalline cellulose as a base material ((a) in Application Example 2), (2) shows the results obtained using lactose as a base material ((b) in Application Example 3), (3) shows the results obtained using hydroxypropylcellulose ((c) in Application Example 3), and the broken line shows the results of the control.

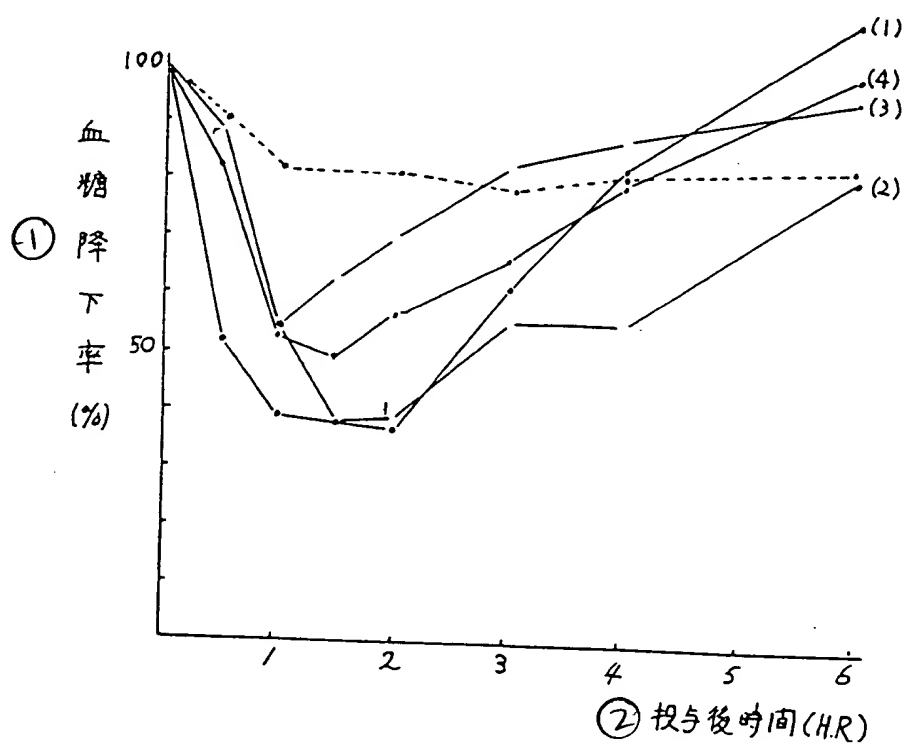


Figure 1

Key: 1 Hypoglycemia level (%)  
2 Time after administration (h)

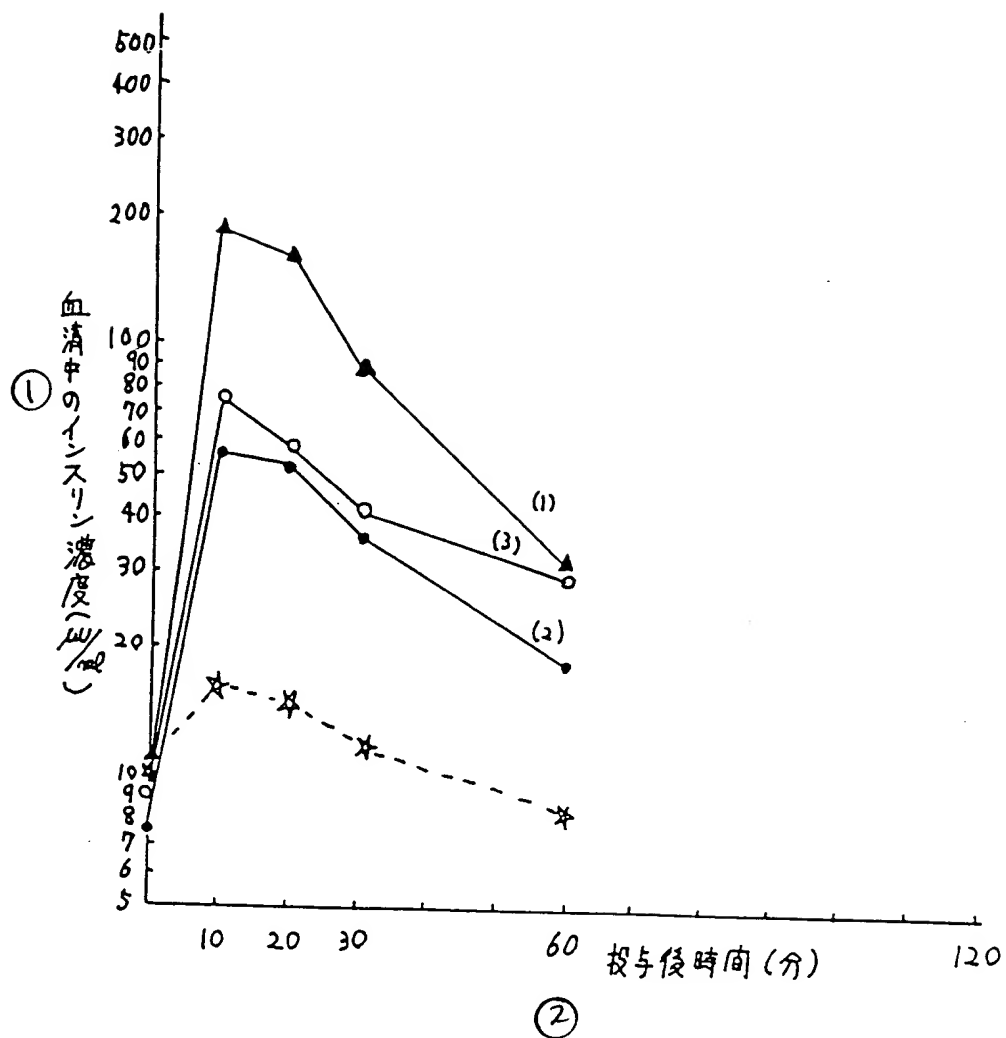


Figure 2

Key: 1 Serum insulin concentration ( $\mu\text{L/mL}$ )  
 2 Time after administration (min)